

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT BUAH  
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP SEL HeLa**



**Disusun sebagai salah satu syarat menyelesaikan Program Studi Strata I  
pada Jurusan Farmasi Fakultas Farmasi**

**Oleh:**

**MUHAMAD NUR KHAIRUDIN**

**K 100 150 152**

**PROGRAM STUDI FARMASI  
FAKULTAS FARMASI  
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH SURAKARTA  
2019**

**HALAMAN PERSETUJUAN**

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN ETILASETAT BUAH  
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP SEL HeLa**

**PUBLIKASI ILMIAH**

oleh:

**MUHAMAD NUR KHAIRUDIN**

**K100150152**

Telah diperiksa dan disetujui untuk diuji oleh:

Dosen Pembimbing



**MARYATI, Ph.D., Apt**

**NIK. 871**

**HALAMAN PENGESAHAN**

**UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT BUAH  
MENGKUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP SEL HeLa**

**OLEH**

**MUHAMAD NUR KHAIRUDIN**

**K 100 150 152**

**Telah dipertahankan di depan Dewan Penguji  
Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta  
Pada hari senin, 15 Juli 2019  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat**

**Dewan Penguji:**

- 1. Peni Indrayudha, Ph.D., Apt**  
**(Ketua Dewan Penguji)**
- 2. Dr. Muhtadi, M.Si**  
**(Anggota I Dewan Penguji)**
- 3. Maryati, Ph.D., Apt**  
**(Anggota II Dewan Penguji)**

(.....)  
(.....)  
(.....)

**Dekan,**



**Azis Saifudin, Ph.D., Apt**

**NIK. 956**

## **PERNYATAAN**

Dengan ini saya menyatakan bahwa dalam naskah publikasi ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan orang lain, kecuali secara tertulis diacu dalam naskah dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila kelak terbukti ada ketidakbenaran dalam pernyataan saya di atas, maka akan saya pertanggungjawabkan sepenuhnya.

**Surakarta, 15 Juli 2019**

Penulis



**MUHAMAD NUR KHAIRUDIN**

**K 100 150 152**

# UJI SITOTOKSIK EKSTRAK ETANOL DAN ETIL ASETAT BUAH MENKGUDU (*Morinda citrifolia* L.) TERHADAP SEL HeLa

## Abstrak

Penelitian bahan alam sebagai alternatif atau terapi pendamping pada penyakit kanker masih perlu dikembangkan. Mengkudu merupakan salah satu tanaman yang berpotensi sebagai antikanker. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas sitotoksik dan mengetahui golongan senyawa yang terkandung di dalam buah mengkudu. Sampel yang digunakan pada penelitian ini berasal dari Boyolali dan Karanganyar yang bertujuan untuk membandingkan sampel pada daerah dataran rendah dan dataran tinggi. Ekstraksi pada penelitian ini menggunakan metode maserasi dengan etanol dan etil asetat. Uji sitotoksik dilakukan dengan metode MTT. Kromatografi lapis tipis (KLT) dilakukan untuk mengidentifikasi golongan senyawa yang terkandung didalam ekstrak. Penetapan senyawa antraquinon dan kumarin menggunakan reagen KOH. Hasil uji sitotoksik menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu tidak memiliki aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa. Hasil analisis kualitatif menggunakan KLT memungkinkan bahwa ekstrak mengandung senyawa antraquinon, kumarin, terpenoid dan flavonoid. Senyawa terpenoid menggunakan anisaldehyd dan flavonoid menggunakan sitroborat.

**Kata Kunci:** Buah Mengkudu, *Morinda citrifolia* L, MTT Assay, KLT.

## Abstract

Research on natural materials as an alternative or companion therapy in cancer still needs to be developed. Noni is one of the plants that has the potential as an anticancer. This study aims to determine cytotoxic activity and determine the class of compounds contained in noni fruit. The sample used in this study came from Boyolali and Karanganyar which aimed to compare samples in lowland and highland areas. Extraction in this study used maceration methods with ethanol and ethyl acetate. Cytotoxic tests were carried out using the MTT assay. Thin layer chromatography (TLC) was carried out to identify the class of compounds contained in the extract. Determination of antraquinone and coumarin compounds using KOH reagents. Cytotoxic test results showed that the ethanol and ethyl acetate extract of noni fruit did not have cytotoxic activity against HeLa cells. The results of a qualitative analysis using TLC allowed that the extract contained antraquinone, coumarin, terpenoids and flavonoids. The terpenoid compounds use anisaldehyde and flavonoids using sitroborat.

**Keywords:** Noni Fruit, *Morinda citrifolia* L, MTT Assay, TLC.

## 1. PENDAHULUAN

Kanker merupakan penyakit penyebab kematian kedua di negara berkembang (Jemal *et al.*, 2011). Kanker servik merupakan penyakit yang paling banyak ditemukan pada wanita baik di Indonesia maupun di luar negeri (Gupta, 2013). *The American Cancer Society* memperkirakan 182 - 460 kasus (yang menyumbang 26% dari semua kasus kanker baru) untuk tahun 2008 di Amerika Serikat, yang mengakibatkan 40 - 480 kematian dan insiden kanker payudara pada wanita di Amerika Serikat

adalah 1 banding 8 atau sekitar 13% (Sharma, 2015). Pengobatan kanker menggunakan kemoterapi memberikan banyak efek samping seperti mual muntah, rambut pasien menjadi rontok, anemia dan melemahnya memori pada pasien.

Kanker dikenali dari sel yang abnormal mengalami pertumbuhan dan menyebar secara tidak terkendali. Sel kanker dapat menyerang sel normal dan dapat berpindah ke jaringan yang lain melalui peredaran darah (Kimble, 2013). Sel yang digunakan pada penelitian ini ialah sel HeLa. Sel HeLa adalah sel kanker leher rahim akibat infeksi Human Papillomavirus (HPV 18) sehingga mempunyai sifat yang berbeda dengan sel leher rahim normal (Goodwin, 2000). Sel HeLa merupakan sel manusia yang aman digunakan untuk kepentingan kultur sel, bersifat immortal (tidak mati) dan membelah secara tidak terbatas (Amalia, 2018). Sel HeLa merupakan kultur *immortal* pertama yang diambil dari jaringan Henrietta Lacks. Henrietta Lacks merupakan seorang petani yang menderita kanker serviks sehingga nama Sel tersebut diberi nama sel HeLa (Zielenski, 2010).

Indonesia dijuluki sebagai negara *megabiodiversity* dengan keanekaragaman hayati di dunia (Triyono, 2013). Terdapat sekitar 25.000-30.000 spesies tanaman yang tumbuh di Indonesia dengan persentase tanaman di Asia terbanyak 90% dan 80% dari tanaman yang ada di dunia (Erdelen, 1999). Tanaman herbal obat-obatan seringkali kita temukan dalam kehidupan sehari-hari. Salah satu tumbuhan obat yang sering dikonsumsi oleh masyarakat ialah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Amrianto, 2017). Bahan alam sebagai obat alternatif atau obat pendamping untuk kemoterapi belum banyak ditemukan. Salah satu bahan alam yang berpotensi untuk dikembangkan adalah buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Febriansyah, 2013). Buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) adalah salah satu tanaman yang banyak dimanfaatkan sebagai obat tradisional untuk berbagai macam penyakit contohnya memiliki aktivitas sitotoksik (Anwar, 2016).

Uji sitotoksik ekstrak etil asetat buah mengkudu pada sel MCF-7 dengan  $IC_{50}$  sebesar 25  $\mu$ g / ml dan dapat meningkatkan apoptosis (Sharma, 2015). Febriansyah (2013) dalam penelitiannya menemukan ada tiga macam senyawa yang ada pada buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) yang mampu menghambat perkembangan sel kanker yakni damnachantal, proxeronine dan alzarin. Damnactal pertama kali diisolasi dari tanaman mengkudu dan dalam penelitiannya teridentifikasi derivat senyawa antraquinolon (Kamata *et al.*, 2006). Proxeronine merupakan salah satu alkaloid yang terdapat di tanaman mengkudu dan alzarin merupakan senyawa antraquinon.

Ekstrak etanolik buah mengkudu yang diperoleh di daerah Kotagede Yogyakarta memiliki aktivitas terhadap sel HeLa dengan nilai  $IC_{50}$  4.094  $\mu$ g/ml (Febriansyah *et al.*, 2013). Hasil ini berbeda dengan buah mengkudu yang diperoleh dari Surabaya, diuji dengan sel yang sama (HeLa) dengan hasil  $IC_{50}$  214,438  $\mu$ g/ml (Yuanita, 2012). Dari penelitian diatas terlihat hasil mengkudu dari daerah Yogyakarta dan Surabaya memiliki aktivitas sitotoksik dengan nilai  $IC_{50}$  yang berbeda. Pada

penelitian ini dilakukan uji aktivitas sitotoksik dan kandungan senyawa dari ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu yang diperoleh dari Teras, Boyolali dan Matesih, Karanganyar, Jawa Tengah.

## **2. METODE**

### **2.1. Alat**

Alat yang digunakan pada penelitian ini diantaranya alat-alat gelas (Pyrex), almari pengering (Oven), *rotary evaporator* (Heidolph), corong bunchner, kompressor, neraca analitik (*Ohaus*), mikropipet (*Socorex*), vorteks (*Maxi Mix II*), mikroskop inverted, inkubator CO<sub>2</sub> (BINDER), LAF (ESCO cytotoxic safety), conical tube, *96-well plate* (Iwaki), pipet *Pasteur*, *hemacytometer* (Neubauer), *counter*, *ELISA reader* (Biotek) dan lampu UV.

### **2.2. Bahan**

Bahan yang digunakan pada penelitian ini diantaranya buah mengkudu yang diperoleh dari Teras, Boyolali dan Matesih, Karanganyar, Sel HeLa, etanol 96%, etil asetat, larutan *Phosphate Buffer Saline* (PBS), tripsin-EDTA, medium *Roswell Park Memorial Institute* (RPMI), larutan *Dimethyl Sulfoxide* (DMSO) 5%, reagen [3-(4,5-dimetilthiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromida] (MTT), larutan *Sodium Deodecyl Sulphate* (SDS) 10% dalam 0,01 N HCl, tripsin-EDTA, Fetal Bovine Serum (FBS), reagen FeCl<sub>3</sub>, sitroborat, anisaldehyd dan KOH etanolik.

### **2.3. Ekstraksi**

Buah mengkudu yang diperoleh dari daerah Matesih, Karanganyar dan Teras, Boyolali pada penelitian ini diambil daging buahnya dengan dipotong tipis-tipis dan dikeringkan menggunakan almari pengering selama 48 jam. Simplisia dari mengkudu yang diperoleh selanjutnya dilakukan maserasi selama 72 jam. Ekstrak hasil maserasi dimasukkan ke dalam corong bunchner untuk menghilangkan serbuk-serbuk kecil. Ekstrak ditampung menjadi satu dan diuapkan, untuk memisahkan pelarutnya. Penguapan dilakukan dengan menggunakan alat *rotary evaporator* pada suhu 50-60°C, sampai pelarut habis menguap, sehingga didapatkan ekstrak kental buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) (Amrianto, 2017). Setelah diuapkan menggunakan *rotary evaporator* selanjutnya dihilangkan kandungan air yang ada agar menjadi ekstrak kental kurang lebih 1-2 hari di *waterbath* dan diperoleh hasil ekstrak kental buah mengkudu.

### **2.4. Uji Sitotoksik dengan MTT assay**

#### **2.4.1. Panen Sel**

Sel dari Inkubator CO<sub>2</sub> diambil dan diperiksa pada mikroskop *inverted*, jika sudah terjadi 80% konfluen atau sel telah merata sehingga sel dapat dipanen. Media dibuang menggunakan mikropipet atau pipet *Pasteur* steril dicuci dengan PBS 5 ml dan dibersihkan dengan pipet *Pasteur* steril. Ditambahkan tripsin-EDTA (450 µL) diratakan dan diinkubasi selama 5 menit. Penambahan tripsin-EDTA berfungsi untuk melepaskan sel yang melekat pada flask/plat. Setelah diinkubasi,

ditambahkan media RPMI sebanyak 5 ml dan diresuspensi. Dilihat di mikroskop inverted, apabila sel telah menyebar dapat dipindahkan kedalam *conical tube* dan dipindahkan ke hemasitometer dan dilakukan perhitungan sel yang ada pada kamar A, B, C dan D. Dihitung jumlah sel di tiap kamarnya selanjutnya dihitung menggunakan rumus :

$$\text{Jumlah Sel terhitung/mL} = \frac{\sum \text{Sel Kamar A} + \sum \text{Sel Kamar B} + \sum \text{Sel Kamar C} + \sum \text{Sel Kamar D}}{4} \times 10^4 \quad (1)$$

Setelah selesai menghitung, sel diambil sesuai hasil hitungan dan di tambahkan media hingga 10 mL.

#### 2.4.2. Uji Sitotoksik dengan MTT assay

Sel kanker serviks (HeLa) di suspensikan sebanyak 100  $\mu$ L dan didistribusikan kedalam sumuran-sumuran pada *96-well plate* dan diinkubasi 24 jam. Ke dalam sumuran dimasukkan 100  $\mu$ L larutan ekstrak mengkudu dengan seri konsentrasi sebagai berikut: 50  $\mu$ g/ml, 100  $\mu$ g/ml, 200  $\mu$ g/ml, 400  $\mu$ g/ml, dan 800  $\mu$ g/ml dengan 3 replikasi untuk masing masing kelompok A1 dan A2 dan 3 replikasi untuk kelompok B1 dan B2. Sel diinkubasi 48 jam dalam inkubator dengan aliran 5% CO<sub>2</sub>. Pada akhir inkubasi, media kultur dibuang lalu ditambahkan 10  $\mu$ L larutan MTT (5 mg/mL PBS), dan medium diganti dengan 190  $\mu$ L medium RPMI 1640 komplit. Sel kemudian diinkubasi didalam inkubator. Ditambahkan *reagen stopper* setelah proses inkubasi yang selanjutnya akan dilihat nilai absorbansi pada ELISA *reader* dan dihitung IC<sub>50</sub>nya (Cancer Chemoprevention Research Center, 2014).

#### 2.4.3. Analisis Data

Percobaan uji sitotoksik ini didapat hasil absorbansi dari Elisa *reader* dan nilai absorbansi kontrol pelarut lebih kecil dari absorbansi kontrol sel, maka rumus yang digunakan yaitu:

$$\% \text{ sel hidup} = \frac{(\text{Absorbansi perlakuan} - \text{Absorbansi kontrol media})}{(\text{Absorbansi kontrol pelarut} - \text{Absorbansi kontrol media})} \times 100\% \quad (2)$$

Selanjutnya membuat grafik dari log konsentrasi vs persentase sel hidup, kemudian ditentukan r dari regresi liniernya. Mencari IC<sub>50</sub> persamaan regresi linier harus memenuhi standar yaitu nilai r lebih besar dari nilai r tabel. Mendapatkan IC<sub>50</sub> dengan cara disubstitusi 50% pada persamaan  $Y = Bx + A$ , sehingga didapatkan nilai x, kemudian nilainya di antilog (Cancer Chemoprevention Research Center, 2013).

#### 2.5. Skrining Fitokimia menggunakan KLT

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan kromatografi yang lebih mudah dan murah. Peralatan yang digunakan juga sederhana dan dapat dipakai disemua labratorium karena pelaksanaannya yang cepat (Gandjar, 2012). KLT digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa. Ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu yang memiliki aktivitas sitotoksik ditotolkan kefasediam berupa plat



silika GF<sub>254</sub> dengan menggunakan mikropipet sebanyak 2 sampai 3 totolan. Setelah itu, plat dielusi di dalam *chamber* yang sebelumnya sudah dijenuhkan menggunakan fase gerak (etil asetat : N-Hexana) 7:3 hingga batas yang ditentukan, kemudian plat dikeringkan pada suhu kamar dan diamati pada sinar tampak, sinar UV pada dua panjang gelombang yakni 254 nm dan 366 nm. Plat KLT disemprot dengan reagen FeCl<sub>3</sub> untuk medeteksi adanya senyawa fenolik, reagen sitroborat untuk medeteksi senyawa flavonoid, anisaldehyd-H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> untuk mendeteksi terpenoid, dan KOH-etanolik untuk medeteksi kumarin. (Amalia, 2018). Perhitungan Rf dapat digunakan rumus :

$$R_f = \frac{\text{Jarak elusi zat terlarut (cm)}}{\text{Jarak elusi pelarut (cm)}} \quad (3)$$

### 3. HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 3.1 Ekstraksi

Penelitian ini menggunakan buah mengkudu dari daerah dataran rendah dan dataran tinggi. Sampel yang digunakan untuk dataran tinggi berasal dari daerah Matesih, Karanganyar dan sampel dataran rendah diambil di Teras, Boyolali. Penelitian ini dilakukan untuk membandingkan aktivitas sitotoksik buah mengkudu yang ada di surabaya (Yuanita, 2012) dan ekstrak etanol buah mengkudu yang berasal dari Yogyakarta (Febriansyah, 2013). Ekstraksi dilakukan dengan metode maserasi. Etanol dan etil asetat yang digunakan sebagai pelarut pada penelitian ini. Etanol merupakan pelarut yang umum digunakan dan diharapkan banyak senyawa aktif yang terkandung didalamnya sedangkan etil asetat yang memiliki sifat semi polar sehingga dapat menarik zat aktif tertentu. Hasil perhitungan randemen (%) untuk Ekstrak etanol maupun etil asetat dapat dilihat pada Tabel.1.

**Tabel 1. Data hasil rendemen ekstrak buah mengkudu**

Asal	Pelarut	Bobot (gram)		Rendemen (%)
		Simplisia	Ekstrak	
Boyolali	Etil Asetat	169,00	5,15	3,04
	Etanol	167,19	13,70	8,19
Matesih	Etil Asetat	307,46	3,69	1,2
	Etanol	282,08	41,02	14,54

Tabel.1 menunjukkan bahwa hasil perolehan terbanyak dari ekstrak etanol yang berasal dari Matesih, Karanganyar dengan nilai rendemen sebesar % 14,54 . Ekstrak etanol dengan sifatnya yang polar sehingga banyak zat aktif yang tersari. Pengambilan sampel di Matesih yang merupakan daerah dataran tinggi sehingga banyak memiliki kandungan air yang tinggi. Buah ini diambil pada bulan januari bertepatan dengan musim penghujan. Rendemen menggambarkan banyaknya zat metabolit sekunder yang tersari. Sedangkan untuk ekstrak etil asetat didapat perolehan nilai

rendemen 1,2 % hal ini dikarenakan sifatnya yang semipolar sehingga sedikit zat aktif yang tersari. Sebagaimana dalam penelitian lain untuk ekstrak etil asetat buah mengkudu yang diperoleh dari kediri oleh (Setiyawan, 2013) pada bulan september 2012 juga memiliki nilai rendemen 0,05 %.

### 3.2 Uji Sitotoksik dengan MTT Assay

Uji sitotoksik ini menggunakan metode MTT assay. Prinsip dari metode MTT adalah terjadinya reduksi garam kuning tetrazolium MTT (3-(4,5-dimetiltiazol-2-il)-2,5-difeniltetrazolium bromid) oleh sistem reduktase suksinat tetrazolium yang termasuk dalam rantai respirasi dalam mitokondria sel-sel yang hidup membentuk kristal formazan berwarna ungu dan tidak larut air. Intensitas warna ungu yang terbentuk proporsional dengan jumlah sel hidup. Sehingga jika intensitas warna ungu semakin besar, hal ini menandakan jumlah sel hidup semakin banyak (CCRC, 2013).

**Tabel 2. Data hasil uji sitotoksik ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu**

Kadar ( $\mu\text{g/mL}$ )	Boyolali		Mateih	
	Etanol	Etil asetat	Etanol	Etil asetat
	% Sel hidup	%Sel hidup	%Sel Hidup	%Sel hidup
800	118,23 $\pm$ 3,59	140,93 $\pm$ 6,04	117,28 $\pm$ 6,16	129,80 $\pm$ 0,25
400	122,55 $\pm$ 3,20	109,15 $\pm$ 6,43	106,00 $\pm$ 5,83	127,16 $\pm$ 7,47
200	127,31 $\pm$ 7,69	138,08 $\pm$ 8,48	132,14 $\pm$ 2,64	130,39 $\pm$ 2,42
100	134,27 $\pm$ 12,71	122,48 $\pm$ 4,61	139,69 $\pm$ 4,50	127,09 $\pm$ 10,33
50	149,87 $\pm$ 2,37	139,03 $\pm$ 9,96	159,46 $\pm$ 3,20	137,34 $\pm$ 3,09

Percobaan buah mengkudu yang diperoleh dari Matesih Karanganyar dan Teras Boyolali mendapatkan hasil pertumbuhan sel diatas 100% yang menandakan bahwa ekstrak etanol dan etil asetat tidak memiliki aktivitas sitotoksik pada konsentrasi 800;400;200;100 dan 50  $\mu\text{g/mL}$ . Pertumbuhan sel pada sampel yang terdapat pada Tabel 2 jumlah sel hidup diatas 50% dan tidak ada yang di bawah 50% sehingga nilai  $\text{IC}_{50}$  pada penelitian ini tidak dapat dihitung, dikarenakan tidak memenuhi syarat. Berbeda dengan penelitian sebelumnya yang berada di surabaya menggunakan ekstrak etanol mendapatkan  $\text{IC}_{50}$  214,438  $\mu\text{g/mL}$  pada sel HeLa (Yunita,2012) dan di Kotagede Yogyakarta mendapatkan hasil  $\text{IC}_{50}$  4,094  $\mu\text{g/mL}$  menggunakan ekstrak etanol (Febriansyah, 2013). Pada penelitian akar mengkudu yang berasal dari pontianak kalimantan barat menyebutkan bahwa akar buah mengkudu juga memiliki aktivitas sitotoksik hal ini ditandai dengan adanya senyawa antraquinon yang berpotensi memiliki aktivitas sitotoksik (Sindora, *et al.*, 2017). Faktor yang menyebabkan mengapa pada penelitian ini  $\text{IC}_{50}$  tidak dapat dihitung diantaranyaletak geografis sumber tanaman yang berbeda dimana unsur hara yang terkandung juga berbeda, usia tanaman dan bagian tanaman yang diambil. Sebagaimana dalam penelitian lain pada ekstrak etil asetat terhadap sel MCF -7 mendapatkan  $\text{IC}_{50}$  25  $\mu\text{g/mL}$  (Sharma K.*et al.*, 2015). Dari hal tersebut baik faktor asal tanaman dan sel yang digunakan juga mempengaruhi aktivitas sitotoksik ini. Pada penelitian ini yang digunakan ialah buah dari mengkudu dan senyawa target yang diharapkan dapat menghambat sel

kanker yakni antraquinon. Antraquinon yang terdapat pada ekstrak etil asetat sangat sedikit sebagaimana pada Gambar 1. Bercak merah yang tipis menandakan adanya antraquinon namun sedikit.

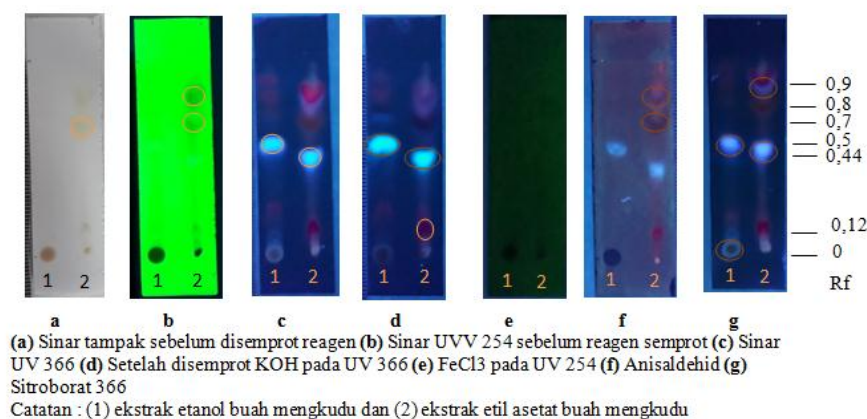
**Tabel 3. Data hasil uji sitotoksik kontrol positif (doxorubicin) terhadap sel HeLa**

Konsentrasi ( $\mu\text{g/mL}$ )	Abs			% Sel Hidup			%sel hidup
	1	2	3	1	2	3	
25	0,137	0,153	0,150	5,08	8,60	7,94	7,21 $\pm$ 1,86
12,5	0,151	0,147	0,145	8,16	7,28	6,84	7,43 $\pm$ 0,67
6,25	0,171	0,158	0,167	12,55	9,70	11,68	11,31 $\pm$ 1,46
3,125	0,211	0,181	0,179	21,34	14,75	14,31	16,81 $\pm$ 3,93
1,5625	0,213	0,211	0,227	21,78	21,34	24,86	22,67 $\pm$ 1,91

Konsentrasi yang digunakan pada penelitian ini yakni 25; 12,5; 6,25; 3,125 dan 1,5625  $\mu\text{g/mL}$ . Konsentrasi yang digunakan tersebut dapat menghambat pertumbuhan sel kanker dengan nilai  $\text{IC}_{50}$  7,0  $\mu\text{g/mL}$ . Doxorubicin yang digunakan pada uji sitotoksik ini sebagai kontrol positif dalam penelitian ini. Doxorubicin sebagai kontrol positif dengan seri konsentrasi yang digunakan dapat menghambat pertumbuhan sel kanker pada penelitian ini. Pada Tabel 3 jumlah persentasi sel hidup tertinggi pada penelitian ini 22,67 % dan tidak ada sel yang hidup diatas 50% sehingga  $\text{IC}_{50}$  pada penelitian ini tidak dapat dihitung (Auolali *et al.*, 2003).

### 3.3 Uji KLT

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) merupakan teknik kromatografi yang lebih mudah dan murah. Peralatan yang digunakan juga sederhana dan dapat dipakai disemua labratorium karena pelaksanaannya yang cepat. (Gandjar, 2012) KLT digunakan untuk mengidentifikasi golongan senyawa. Ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu yang memiliki aktivitas sitotoksik ditotolkan kefase diam berupa plat silika  $\text{GF}_{254}$ . Untuk identifikasi golongan senyawa diamati pada sinar tampak, sinar UV pada dua panjang gelombang yakni 254 nm dan 366 nm.



**Gambar1. Hasil Uji Kualitatif Kromatografi Lapis Tipis**

**Tabel 4. Hasil KLT ekstrak etanol buah mengkudu**

Rf	Sinar tampak	UV 254	UV 366	Reagen semprot				Kandungan senyawa
				KOH	Sitroborat UV <sub>366</sub>	Anisaldehyd	FeCl <sub>3</sub>	
0	Coklat	Pemadaman	-	-	Hijau	-	-	Flavonoid
0,44	-	-	Biru	Biru	Biru	-	-	Kumarin
0,5	-	-	Biru	-	-	-	-	Kumarin
0,7	Kuning	Pemadaman	-	-	-	-	-	Terpenoid
0,8	Coklat	-	-	-	-	-	-	Terpenoid

Terdapat bercak totolan KLT yang berada disebelah kiri pada gambar 1. merupakan ekstrak etanol dan yang disebelah kanan merupakan ekstrak etil asetat. Tabel 4 menjelaskan identifikasi senyawa menggunakan fase gerak etil asetat : n hexan dengan perbandingan 7:3. Ekstrak etanol dianalisis dengan reagen KOH terdapat warna biru dengan Rf 0,44 yang menandakan adanya senyawa kumarin. Penggunaan reagen sitroborat pada ekstrak etanol buah mengkudu bertujuan untuk identifikasi adanya senyawa flavonoid yang nantinya pada UV366 akan berfluoresensi hijau, ungu, biru, kuning (Anwar, 2016). Dalam penelitian ini diperoleh rf 0 dengan fluoresensi hijau dan rf 0,44 setelah disemprot reagen sitroborat.

**Tabel 5. Hasil KLT ekstrak etil asetat buah mengkudu**

Rf	Sinar tampak	UV 254	UV 366	Reagen semprot				Kandungan senyawa
				KOH	Sitroborat UV <sub>366</sub>	Anisaldehyd	FeCl <sub>3</sub>	
0	Coklat	Pemadaman	-	-	-	-	-	Flavonoid
0,12	-	-	-	Merah	-	-	-	Antraquinon
0,44	-	-	Biru	-	Biru	-	-	Kumarin
0,5	-	-	Biru	Biru	-	-	-	Kumarin
0,7	Kuning	Pemadaman	-	-	-	Ungu	-	Terpenoid
0,8	Coklat	-	-	-	-	Ungu	-	Terpenoid
0,9	-	-	-	-	Ungu	-	-	Flavonoid

Bercak totolan KLT yang berada disebelah kanan pada Gambar 1 merupakan ekstrak etil asetat buah mengkudu. Tabel 5 Menjelaskan analisis ekstrak etil asetat buah mengkudu yang terdapat pada sisi kanan pada gambar 1 menggunakan reagen KOH pada rf 0,5 yang menandakan pada senyawa tersebut mengandung adanya kumarin dan bercak merah dengan Rf 0,12 menandakan adanya senyawa antraquinon (Sindora, *et al.*, 2017). Antraquinon yang terdapat disini sedikit terlihat dengan bercak yang tipis sehingga antraquinon pada ekstrak etanol buah mengkudu ini lemah. Penggunaan FeCl<sub>3</sub> untuk melihat adanya senyawa fenolik dengan ditandai bercak warna ungu, merah, hijau, biru, coklat atau hitam yang kuat (Harborne, 1987). Pada ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu tidak terdapat hasil bercak yang berwarna. Penggunaan Anisaldehyd untuk identifikasi senyawa terpenoid, akan menghasilkan bercak berwarna ungu, kuning coklat, hitam pada sinar tampak dan berfluoresensi hijau pada UV 254 (Saifudin, 2014). Untuk anisaldehyd didapatkan Rf 0,7 dan 0,8 dengan bercak berwarna ungu. Penggunaan reagen sitroborat bertujuan untuk identifikasi adanya senyawa flavonoid yang nantinya pada UV366 akan berfluoresensi hijau, ungu,

biru, kuning (Anwar, 2016). Dalam penelitian ini diperoleh Rf; 0,44 dengan warna biru dan 0,9 dengan warna ungu setelah disemprot reagen sitroborat.

#### 4. PENUTUP

Ekstrak etanol dan etil asetat buah mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada daerah Matesih, Karanganyar dan Teras, Boyolali tidak memiliki aktivitas sitotoksik. Golongan Senyawa yang terkandung didalam ekstrak etanol buah mengkudu meliputi kumarin dan flavonoid. Golongan senyawa ekstrak etil asetat yang diperoleh pada penelitian ini meliputi kumarin, antraquinon dan terpenoid.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Amalia, D. A., 2018, Sitotoksitas Ekstrak Etanol Daun Ashitaba (*Angelica keiskei*), Fraksi Polar, Semi Polar dan Non Polar Terhadap Sel HeLa, *Skripsi*, Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Amrianto, 2017, Formulasi Ekstrak Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia*) dalam Bentuk Sediaan Transdermal Liposome, <https://doi.org/10.11959/j.issn.1000-436x.2015184>
- Aouali N., Morjani H., Trussardi A., Soma E., Giroux B. and Manfait M., 2003, Enhanced cytotoxicity and nuclear accumulation of doxorubicin-loaded nanospheres in human breast cancer MCF7 cells expressing MRP1., *International journal of oncology*, 23 (4), 1195–1201.
- Anwar, K., & Triyasmono, L., 2016, Kandungan Total Fenolik, Total Flavonoid, dan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Etanol Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.). *Jurnal Pharmascience*, 3(1), 83–92.
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2014, Protokol Uji Sitotoksik, 1–6.
- Cancer Chemoprevention Research Center, 2013, Prosedur Tetap Uji Sitotoksik Metode MTT. *Cancer Chemoprevention Research Center Fakultas Farmasi UGM*, 1–8.
- Erdelen WR., Adimihardja K., Moesdarsono H., Sidik, 1999, Biodiversity, traditional medicine and the sustainable use of indigenous medicinal plants in Indonesia, *Indigenous knowledge and development monitor*, 7 (3), 3-6.
- Febriansyah, R., Chafidhoturrofiah, H., & Rizkiani, M., 2013, Analisis Kandungan Senyawa Kimia dan Uji Antikanker Ekstrak Etanolik Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) pada Sel kanker Serviks HeLa,
- Goodwin E.C., and DiMaio D., 2000, Repression of Human Papillomavirus Oncogenes in HeLa Cervical Carcinoma Cells Cause the Olderly Reactivation of Dormant Tumor Suppresor Pathways, *Biochemistry*, 97, 23.
- Gupta, R. K., Banerjee, A., Pathak, S., Sharma, C., & Singh, N., 2013, *Induction of Mitochondrial-Mediated Apoptosis by Morinda Citrifolia (Noni) in Human Cervical Cancer Cells*. *Asian Pacific Journal of Cancer Prevention*, 14(1), 237–242.

<https://doi.org/10.7314/APJCP.2013.14.1.237>

- Harborne J.B., 1987. *Metode Fitokimia: Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, diterjemahkan oleh Kosasih Padmawinata dan Iwang Sudiro, Penerbit ITB, Bandung.
- Ibnu Gholib, G., & Rohman, A. 2012, *Kimia Farmasi Analisis*, Yogyakarta, Pustaka Pelajar.
- Jemal A., Bray F., Mellisa M., Ferlay J., Ward E., and Forman D., 2011, Global Cancer Statistics, *A Cancer Journal for Clinicians*, 61 (2), 69-90.
- Kamata, M., Wu, R. P., Sung, D., Saxe, J. P., Damoiseaux, R., Phelps, M. E., ... Chen, I. S. Y., 2006. *Cell-based chemical genetic screen identifies damnacanthol as an inhibitor of HIV-1 Vpr induced cell death*, 348, 1101–1106. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2006.07.158>
- Kimble K. and Youngs, 2013, *Applied Therapeutics The Clinical Use of Drugs 10th Edition*, Lippincott Williams & Wilkins, USA.
- Saifudin, A., 2014, *Senyawa Alam Metabolit Sekunder*, Teori, Konsep dan Teknik Pemurnian, Yogyakarta, Deepublish
- Setiyawan, R. T. D, 2013, Pengaruh Pemberian Ekstrak Etil Asetat Buah Mengkudu (*Morinda citrifolia* L.) Terhadap Kadar ALT (*alanin amino transaminase*) Pada Tikus Putih (*Rattus norvegicus*) Galur Wistar yang Diinduksi dengan Asetaminofen. *Skripsi*, Fakultas Kedokteran, Universitas Muhammadiyah Surakarta.
- Sharma, K., 2015, *Anticancer Effects of Extracts from the Fruit of Morinda Citrifolia ( Noni ) in Breast Cancer Cell Lines*.
- Sindora, G., Allimudin, A. H., & Harlia, 2017, Identifikasi Golongan Senyawa Antraquinon Pada Fraksi Kloroform Akar Kayu Mengkudu ( *Morinda Citrifolia*, L), 6(1), 38 & 41.
- Triyono K., 2013, Keanekaragaman Hayati dalam Menunjang Ketahanan Pangan, *Jurnal Inovasi Pangan*, 11 (1), 12-22.
- Yuanita, E., 2012, Sitotoksitas ekstrak etanol buah mengkudu [*Morinda citrifolia* (L.)] Terhadap Sel Kanker Serviks [HeLa Cell Line (CCL-2)], *Abstrak, Universitas Surabay*, (1), 10000.
- Zielinski S., 2010, *Henrietta Lacks 'Immortal' Cells*, Terdapat di: <http://www.smithsonianmag.com/science-nature/henrietta-lacks-immortal-cells-6421299/> [Diakses pada 6 Mei 2019].